

生物样品的对二氯代苯干燥法

谢家仪 初昭桥 徐 浩

(中国科学院微生物研究所, 北京)

摘要 以乳酸链球菌为材料, 使用对二氯苯干燥法制备扫描电镜样品。照片表明, 本方法所得细胞丰满、不变形, 形态正常, 无凹陷、断裂现象。本方法简单易行, 便于推广。

关键词 对二氯代苯; 乳酸链球菌; 升华

由于生物样品含水量高, 而扫描电子显微镜观察又必须在高真空下进行, 因此样品观察前必须进行干燥处理。在一般生物样品的自然干燥过程中, 往往由于脱水时的应力, 样品表面的细微结构收缩变形。如果经有机溶剂脱水干燥, 由于脱水剂的急剧挥发, 样品表面也会收缩龟裂。为避免表面张力作用, 真实保存样品表面的精细结构, 人们先后采用空气干燥法, 冷冻干燥法, 临界点干燥法, 还有人使用苡烯干燥法。

冷冻干燥法是将样品快速冷冻, 移至真空, 使标本中的水直接在冰冻状态下升华, 达到干燥样品的目的。这种方法有不少缺点, 如: 样品中的水份易变成冰晶; 需要大量液氮; 操作时间长等。目前最常用的方法是临界点干燥法。即利用在密闭容器中的液体(一般为液态 CO_2) 达到临界温度以上时, 气-液界面消失的原理干燥样品。

由于目前缺乏适合的临界点干燥仪, 扫描电镜制样有一定困难。因此我们实验了对二氯代苯干燥法^[1]。获得较满意的结果。

对二氯代苯 ($\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$), 熔点 $52-53^\circ\text{C}$ 。 52°C 以下为固态(白色结晶)。易溶于醇、苯等有机溶剂, 不溶于水。普通温度下升华^[2]。

(一) 实验材料

实验材料为乳酸链球菌 (*Streptococcus lactis*)。

(二) 实验方法

取乳酸链球菌悬液, 离心 (5000r/min , 下

同), 0.2M 磷酸缓冲液 ($\text{pH}6.6$) 清洗两遍, 离心。

1. 固定: 2.5% 戊二醛固定 2 小时, 离心, 上述缓冲液洗两遍, 每次 5 分钟, 离心。然后用 1% 锇酸固定 1 小时, 离心, 上述缓冲液洗两遍, 离心。

2. 乙醇系列脱水: 30% 、 50% 、 70% 、 85% 、 95% 乙醇清洗各 10 分钟, 离心, 再以 100% 乙醇洗两次, 每次 10 分钟, 离心。

3. 浸透: 100% 乙醇: 对二氯代苯 ($1:1$) 55°C 下混匀成均一溶液, 菌块浸入溶液打散, 混匀成细菌悬液浸透 15 分钟。滴一滴细菌悬液在样品台上, 滴 2 滴 55°C 下熔化的纯对二氯代苯在样品表面, 对二氯代苯即均匀散开。

4. 升华干燥: 在 40°C 温箱中自然升华。约 3 小时后, 升华完成, 放入干燥器。

5. 喷金: 离子溅射喷涂, 厚度约 $150\text{\AA}$ 。

6. S-570 扫描电镜观察: 加速电压 20KV , 工作距离 15mm 。

样品观察结果表明: 经对二氯代苯干燥处理的乳酸链球菌呈链状, 菌体球形, 饱满, 规则, 均匀。无明显变形、收缩(图版 1-1-3)。

用空气自然干燥法处理的样品, 链出现断裂, 菌体出现凹陷, 收缩, 不规则。有明显变形。(图版 1-4-5)。

使用本法还处理过酵母菌和较脆弱的真菌孢子, 效果也良好。

因对二氯代苯有气味, 故需在通风良好处

本实验承董光军同志协助, 特此致谢。

操作。

综上所述,用于扫描电镜的对二氯代苯干燥法具有简单,经济、易于操作,不需特殊设备,可同时制备大量样品,样品制备周期短等优点。它减少样品变形,良好地保存了样品的自然形态,观察效果较好,因此是一种较好的细菌扫描电镜样品干燥法。对于没有临界点干燥仪和冷冻样品装置的单位,更为适用。此法对于生物

粘膜组织等其他材料的干燥效果如何,尚待试验。

参 考 文 献

- [1] 田中敬一等:图解扫描电子显微镜,第100页,科学出版社,北京,1984年。
- [2] 上海化学试剂采购供应站编:试剂手册,34530号,上海科学技术出版社,1984年。